

51

BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND

DEUTSCHES PATENTAMT



52

Int. Cl.:

C 12 b, 1/00

C 12 b, 7/02

A 23 d, 1/46

A 23 g, 3/00

A 21 d, 2/36

Deutsche Kl.:

6 b, 3/01

6 a, 22/01

53 k, 4/01

53 f, 3

2 c, 2/02

10

11

21

22

43

# Offenlegungsschrift 2 320 425

Aktenzeichen: P 23 20 425.3-41

Anmeldetag: 21. April 1973

Offenlegungstag: 7. November 1974

Ausstellungspriorität: —

30

Unionspriorität

32

Datum: —

33

Land: —

31

Aktenzeichen: —

54

Bezeichnung:

Verfahren zur Gewinnung eines flüssigen oder getrockneten  
Aufschlußproduktes aus Cerealien

61

Zusatz zu: —

62

Ausscheidung aus: —

71

Anmelder:

C.H. Boehringer Sohn, 6507 Ingelheim

Vertreter gem. § 16 PatG: —

72

Als Erfinder benannt:

Hartmeier, Winfried, Dr., 6530 Bingen; Kuchinket, Eduard, Dr.,  
6507 Ingelheim

Prüfungsantrag gemäß § 28 b PatG ist gestellt

DT 2320425

Case 3/103  
Dr.Ve/Ba

C.H. Boehringer Sohn, Ingelheim/Rhein 1

Verfahren zur Gewinnung eines flüssigen oder getrockneten

Aufschlußproduktes aus Cerealien

Die Erfindung betrifft ein Verfahren, das unter Verwendung von mikrobiellen und/oder pflanzlichen Enzymen sowie eines geringen Malz-Schüttungsanteils einen technologisch und ökonomisch günstigen Aufschluß von Cerealien-Rohfrucht ermöglicht. Das Aufschlußprodukt kann je nach Einsatzgebiet in flüssiger oder getrockneter (z.B. sprühgetrockneter) Form seiner weiteren Verarbeitung zugeführt werden. Es kann insbesondere als Bierwürze, Bierwürzesirup oder Bierwürzepulver für Brauzwecke Verwendung finden. Weiterhin kann das Aufschlußprodukt als Grundstoff für diverse alkoholische und alkoholfreie Getränke, für Malzbonbons und andere Süßwaren, diätetische und Kinder-Nährmittel, mikrobiologische Nährmedien, als Backzusatzstoff u.ä. eingesetzt werden. Die Erfindung betrifft ferner ein zur Durchführung dieses Verfahrens geeignetes spezielles Enzymgemisch.

/ 2

409845/0933

Die klassischen Maischverfahren zur Herstellung von Bierwürze gehen vom Rohstoff Gerstendarrmalz aus, das in einem vorgeschalteten, relativ langwierigen und aufwendigen Mälzungsprozeß aus Braugerste hergestellt wird. Der teilweise Ersatz des Malzes durch billigere, ungemälzte Gerste oder sonstige ungemälzte Cerealien (Rohfrucht) ist möglich und in vielen Ländern seit langem üblich. Aufgrund noch bestehender gesetzlicher Bestimmungen ist dieser ökonomisch vorteilhafte Rohfruchteinsatz in deutschen Brauereien z.Zt. noch auf Ausnahmefälle, z.B. die Herstellung von Exportbieren, beschränkt. Wie die Fach- und Patentliteratur ausweist, finden Rohfruchtwürzen jedoch weltweit zunehmendes Interesse, vor allem, da ihr Einsatz auch für andere Produkte als Bier erwogen wird.

Der Ersatz des Malzes durch Rohfrucht beim Maischen ist ohne Zusatz von Enzymen nur in sehr beschränktem Umfange möglich (vgl. WIEG, A.J.: Die Stärke 22, 200 - 210 (1970)). Um den Rohfrucht-Schüttungsanteil vergrößern zu können, werden seit einigen Jahren Arbeitsweisen vorgeschlagen, die den Zusatz von Enzymen - insbesondere  $\alpha$ -Amylase, Amyloglucosidase (= Glucoamylase) und Proteasen - vorsehen. Die weitaus meisten dieser Verfahren halten Maischrasten bei steigenden Temperaturen ein, wie es von den traditionellen Infusions- und Dekoktionsverfahren der Brauerei her bekannt ist (s. DOS 1 422 288; DOS 1 642 748; US-Patent Nr. 2 790 718 und 3 081 172; KLOPPER, W.J.: Der Brauereitechniker 20, 1 - 4 (1968); MACEY, A. u.a.: EBC-Congress Proc. 1967, S. 283-294). Andere bekanntgewordene Verfahren bestehen aus komplizierten alternierenden Aufheiz- und Abkühlphasen sowie fraktionierter

Enzymzugabe (s. DOS 1 903 400) oder sie beinhalten vorgeschaltete höhere Temperaturstufen zum nicht-enzymatischen Aufschluß bei Kochtemperaturen, unter Druck (s. DOS 2 124 846; DOS 1 911 571) oder mit Säureeinwirkung (s. Brit. Patent 1 203 623). Derartige Arbeitsweisen haben den Nachteil eines hohen energiewirtschaftlichen Aufwandes, schwerer Steuerbarkeit des thermischen Aufschlußprozesses und der Bildung unerwünschter Geschmacks- und Farbstoffe. Bei Verwendung von Säuren zur Hydrolyse macht sich außerdem noch deren korrodierende Wirkung auf die Ausflußapparate unangenehm bemerkbar.

Beim enzymatischen Rohfruchtaufschluß entstehen niedermolekulare (vergärbare) Zucker aus der hochmolekularen Stärke vorwiegend durch verzuckernd wirkende Enzyme, wie Amyloglucosidase und  $\beta$ -Amylase, die Glucose- bzw. Maltoseeinheiten vom nichtreduzierenden Kettenende der Glucosepolymeren abspalten. Voraussetzung für eine optimale Wirkung dieser Enzyme ist das Vorhandensein genügend vieler nichtreduzierender Kettenenden; das ist bei den zunächst unzerstört vorliegenden hochmolekularen Stärkekomponten Amylose und Amylopektin nicht der Fall. Erst die  $\alpha$ -Amylase zerhackt die Amylose- und Amylopektinmoleküle grob zu Dextrinen und schafft viele neue nichtreduzierende Enden, das heißt Angriffspunkte für die weitere Verzuckerung.

Es wurde nun gefunden, daß man ein qualitativ hochwertiges Aufschlußprodukt mittels eines neuartigen Maischverfahrens erhalten kann, das unter Einsatz einer neuartigen Enzymmischung bei minimalem Malzzusatz eine sehr kostensparende Verarbeitung von Rohfrucht (z.B. Gerste, Roggen, Weizen, Mais, Reis, Hafer oder Hirse) erlaubt.

Das Verfahren gemäß der Erfindung arbeitet unter Einsatz einer speziell hierfür entwickelten Enzymmischung mit lediglich zwei Maischrasten, von denen die erste bei höherer Temperatur liegt als die zweite. Die erste Maischrast liegt bei ca. 67-73°C und dient zur Verflüssigung und Dextrinierung mittels geringem Malzzusatz. Die zweite Maischrast hat die Aufgabe, vorhandene Proteine abzubauen und die bei der ersten Maischrast entstandenen Dextrine zu verzuckern, sie erfolgt bei ca. 56°C unter Zugabe des erfindungsgemäßen Enzymgemisches.

Das gemäß der Erfindung erst bei der zweiten Maischrast zuzusetzende Enzymgemisch wurde mit dem Zweck entwickelt, bei möglichst optimaler Aufschlußwirkung die Zahl der pH- und Temperaturänderungen möglichst klein zu halten und damit die Technologie des Maischverfahrens zu vereinfachen. In Anbetracht dieser Zielsetzung wurde ein Enzymgemisch zusammengestellt, dessen Enzyme in ihrem pH- und Temperaturoptimum möglichst übereinstimmen. Das Temperaturoptimum des Gemisches gemäß der Erfindung liegt zwischen 54°C und 62°C, vorzugsweise bei ca. 58°C und das pH-Optimum zwischen 4,5 und 5,5, vorzugsweise bei pH 5,0. Dies sind daher auch die Verfahrensbedingungen der zweiten Maischrast.

Es wurde ferner erkannt, daß im Gegensatz zu der herrschenden Meinung für ein Enzymgemisch, das zur Bereitung von Bierwürze aus 30 bis 96 % Rohfrucht dienen soll, ein Zusatz von  $\alpha$ -Amylase überflüssig ist, wenn die obengenannten Verfahrensbedingungen eingehalten werden. In diesem Fall

genügt nämlich ein minimaler Malzzusatz, um eine optimale Dextrinierung und Jodnormalität bereits vor Ablauf der ersten Maischrast zu erreichen. Allein mit der aus dem geringen Malzanteil stammenden  $\alpha$ -Amylase werden offenbar so viele Dextrinstücke mit nichtreduzierenden Kettenenden gebildet, daß für die verzuckernd wirkende Amyloglucosidase bereits ein Zustand der Substratsättigung vorliegt und eine  $\alpha$ -Amylasezugabe keine weitere Steigerung der Zuckerbildungsrate mehr bewirken würde. Dieses Ergebnis ist überraschend, denn in der Literatur wird gerade die  $\alpha$ -Amylase bei der Rohfruchtverarbeitung als limitierend angesehen (vgl. R.A. Latimer et al, Inst. Brew. Proc. Conf. 9, S. 111-126 (1966); W.J. Kloppe, Der Brauereitechniker 20, S. 1 - 4 (1968)).

Ein Enzymgemisch gemäß der Erfindung enthält ~~demgemäß keine~~ <sup>grundsätzlich</sup>  $\alpha$ -Amylase. Als notwendige Bestandteile enthält es hingegen Amyloglucosidase sowie mindestens eine mikrobielle und/oder pflanzliche Protease. Günstig wirkt sich ferner das Vorhandensein von Cellulasen bzw. Hemicellulasen sowie Pektinasen aus. Derartige Enzyme sind in der Regel als Nebenaktivitäten im Gemisch so viele enthalten, daß die amylolytischen und proteolytischen Enzyme wirksam unterstützt werden und eine gute Filtrierbarkeit der Maische selbst bei mehlfeiner Vermahlung gewährleistet ist. Nur in Ausnahmefällen, in denen die Nebenaktivitäten nicht ausreichen (zum Beispiel bei Verarbeitung von Roggen gewisser Provenienzen), ist ein geringer Zusatz von Pentosanase und/oder  $\beta$ -Glucanase zweckmäßig.

Es hat sich ferner herausgestellt, daß eine optimale Wirkung eines derartigen Enzymgemisches erreicht werden kann, wenn das Gemisch ein Aktivitätsverhältnis der Amyloglucosidase-Einheiten zu Protease-Einheiten von 1 : 0,03 bis 0,5 aufweist.

Beispielsweise kann das Enzymgemisch etwa 500 bis 1500 Einheiten pro Gramm an Amyloglucosidase neben 50 bis 250 Einheiten pro Gramm an Proteasen enthalten.

Ein typisches standardisiertes Enzymgemisch gemäß der Erfindung hat beispielsweise folgende Hauptaktivitäten:

1.000 Amyloglucosidase-Einheiten pro g  
100 Protease-Einheiten pro g

und ist mit einer enzymfreien Substanz auf diese Aktivitätswerte standardisiert.

Selbstverständlich hat auch ein stärker verdünntes oder stärker konzentriertes Enzymgemisch die gleiche Wirkung, wenn nur das oben genannte Verhältnis der Aktivitäten eingehalten und die Einsatzmenge entsprechend angepaßt wird. Die Herstellung eines Enzymgemisches gemäß der Erfindung kann in der Weise erfolgen, daß man Amyloglucosidase mit mindestens einer Protease mikrobiellen oder pflanzlichen Ursprungs mischt, gewünschtenfalls noch Cellulasen, Hemicellulasen und/oder Pektinasen zusetzt und durch Abmischen mit einer enzymfreien Trägersubstanz, beispielsweise Stärke oder Laktose, standardisiert.

Die angegebenen Enzymaktivitäten sind wie folgt definiert und bestimmt worden:

#### Amyloglucosidase-Aktivität

Eine Amyloglucosidase-Einheit entspricht der Menge Enzym, die bei pH 4,4 und 25°C in einer Minute aus löslicher Stärke so viele Gruppen freilegt, daß diese bei jodometrischer Bestimmung einem  $\mu$ Mol Glucose entsprechen.

\*reduzierende

/ 7

409845/0933

Die Durchführung der Bestimmung erfolgt wie beschrieben von H.J. Pieper: Mikrobielle Amylasen bei der Alkoholgewinnung, S. 48-49, Verlag Ulmer, Stuttgart, 1970.

#### Protease-Aktivität

Eine Protease-Einheit entspricht der Menge Enzym, die bei pH 5,0 und 30°C in einer Minute aus denaturiertem Hämoglobin so viele trichloressigsäurelösliche Spaltprodukte bildet, daß diese mit der Farbreaktion nach Folin-Ciocalteu gemessen einem Mol Tyrosin entsprechen.

Bis auf obige definitionsgemäße Bedingungen (pH 5,0 und 30°C) erfolgt die Durchführung der Bestimmung nach R. Ruyssen. (Hrsg.): Symposium on Pharmaceutical Enzymes and their Assay, S. 120-127, Univers. Press, Gent, 1969.

#### $\alpha$ -Amylase-Aktivität (im zugesetzten Weizenmalz enthalten)

Eine  $\alpha$ -Amylase-Einheit nach Sandstedt, Kneen und Blish (SKB-Einheit) entspricht der Menge Enzym, die bei pH 4,7 und 20°C 1 g lösliche Stärke in Gegenwart eines Überschusses von  $\beta$ -Amylase innerhalb einer Stunde so weit dextriniert, daß sich bei Färbung der Ansatzlösung mit Jod eine genormte Vergleichsfarbe ergibt.

Die Durchführung der Bestimmung erfolgt nach der Vorschrift der ASBC, wie sie wiedergegeben ist in J. de Clerck: Lehrbuch der Brauerei, Bd. II, S. 597-600, Verlag VLB, Berlin 1965.



Ein besonderes Merkmal des erfindungsgemäßen Enzym-Kombinationspräparates ist es, daß bei seinem Einsatz in Rohfruchtmaische sowohl der amylolytische Abbau (gemessen an der Zunahme vergärbarer Zucker) als auch der proteolytische Abbau (gemessen an der Zunahme des Formolstickstoffs) sowie die Viskositätsabnahme bei gleichem pH-Wert und gleicher Temperatur am schnellsten verlaufen. Die Tabellen 1 und 2 veranschaulichen anhand der in 12 %igen Würzen ermittelten Analysendaten, daß das als Beispiel angeführte Gemisch diesbezüglich ein pH-Optimum von ca. 5,0 und ein Temperaturoptimum von ca. 58°C hat.

- 9 -

Tabelle 1

		Temperatur der 2. Maischrast (pH 5,0)				
		50°C	54°C	58°C	62°C	66°C
Scheinbare Vergärbarkeit	%	78	84,2	85,5	85,0	80,0
Formol-N	mg/100 ml	26,5	29,6	32,0	30,2	28,2
Viskosität	cp	1,81	1,76	1,63	1,65	1,77

Tabelle 2

		pH-Wert bei der 2. Maischrast (58°C)				
		4,4	4,7	5,0	5,4	5,8
Scheinbare Vergärbarkeit	%	79,2	84,2	85,5	83,0	78,9
Formol-N	mg/100 ml	27,8	30,6	32,0	31,2	26,8
Viskosität	cp	1,96	1,73	1,63	1,78	1,88

409845/0933

Weiterhin ist das erfindungsgemäße Enzymgemisch dadurch ausgezeichnet, daß es durch Kombination voneinander verschiedener, proteolytischer Enzyme einen bisher in anderen Verfahren noch nicht genutzten Optimierungseffekt beinhaltet. Es wurde nämlich gefunden, daß eine höhere proteolytische Abbauwirkung in Rohfruchtmaische resultiert, wenn die proteolytische Gesamtaktivität des Gemisches nicht von einem einzigen, sondern von verschiedenen Proteasepräparaten möglichst stark voneinander abweichender Spezifität beigebracht wird. Besonders gute Wirkung zeigten Kombinationen zwischen pflanzlichen Proteasen, wie Papain, Ficin oder Bromelin und Bakterienproteasen, beispielsweise Protease aus *B. subtilis*. Tabelle 3 verdeutlicht am Beispiel von Papain und Protease aus *B. subtilis* diesen im erfindungsgemäßen Enzymgemisch genutzten Effekt der erhöhten proteolytischen Wirkung durch Kombination spezifitätsunterschiedlicher Einzelenzyme.

Tabelle 3

Aktivitätsanteil Papain zu Bakterienprotease an der konstant gehaltenen Gesamt-Protease- aktivität				
	100: 0	70:30	30:70	0:100
Formol-N mg/100 ml	30,2	32,0	29,8	27,6
Gesamt-N mg/100 ml	116,0	119,1	112,8	107,6

Recht gute Wirkung ergibt sich auch bei der Kombination von Pilz-Proteasen wie Protease aus *Aspergillus oryzae*, oder auch *Aspergillus niger*, *Aspergillus awamori*, *Aspergillus usami* oder *Aspergillus saitoi* mit Bakterienproteasen wie Protease aus *B. subtilis*.

Das Verfahren gemäß der Erfindung verläuft im einzelnen wie folgt:

Die eingesetzten Cerealien (Rohfrucht) werden zunächst unter Zusatz von 4-20 %, vorzugsweise 10 % Malz (z.B. Weizendarr- oder Weizengrünmalz) mit mindestens 80 SKB-Einheiten  $\alpha$ -Amylase pro g Trockensubstanz fein vermahlen. Hierbei ist ein Abtrennen der Spelzen nicht erforderlich, da im Verlauf des erfindungsgemäßen Aufschlußprozesses keine hohen Temperaturen angewandt werden, die verstärkte geschmacklich und farblich unangenehme Auswirkungen haben könnten. Die in der Maische verbleibenden Spelzen verbessern im Gegenteil als zusätzliches Filterhilfsmittel die spätere Filtration.

Nach dem Vermahlen wird mit Wasser verrührt, wobei sich ein pH von ca. 5,5 einstellt. Das entspricht dem für die erste Aufschlußphase optimalen Wert. Dann wird die Maische langsam, d.h. innerhalb von 15 bis 120, vorzugsweise 45 Minuten, auf eine Temperatur zwischen 67°C und 73°C, vorzugsweise 70°C erwärmt und 15 bis 180 Minuten, vorzugsweise etwa 1 Stunde bei dieser Temperatur belassen (1. Maischrast).

Für die Einleitung der zweiten Aufschlußphase muß die Maische dann ggf. auf das Temperatur- und pH-Optimum des erfindungsgemäßen Enzymgemisches eingestellt werden. Dies geschieht

durch Abkühlen auf eine Temperatur von 54 bis 62°C, vorzugsweise 58°C innerhalb eines Zeitraums von 10 bis 60, vorzugsweise 20 Minuten sowie durch Einstellen eines pH-Wertes zwischen 4,5 und 5,5, vorzugsweise 5,0 mittels Säuren, vorzugsweise organischer Genußsäuren wie etwa Zitronensäure oder auch Mineralsäuren (z.B. Schwefelsäure). Sodann wird das Enzymgemisch zugefügt und die eingestellte Temperatur 15 bis 300 Minuten, vorzugsweise 60 Minuten eingehalten. Hieran anschließend folgt die in üblicher Weise erfolgende Separation und/oder Filtration der Maische, der sich entweder die direkte Weiterverarbeitung des als Filtrat anfallenden Aufschlußproduktes oder seine Konzentrierung (z.B. Eindickung zu Sirup, Gefriertrocknung oder Sprühtrocknung) anschließt.

Die ungewöhnliche Temperaturfolge des neuen Maischverfahrens von zuerst ca. 70°C und dann ca. 58°C sowie die erst in der zweiten Stufe erfolgende Enzymzugabe tragen maßgeblich zu seiner außergewöhnlich guten Aufschlußwirkung und hohen Wirtschaftlichkeit bei. Bei feiner Vermahlung des Ausgangsmaterials ergeben sich Extraktausbeuten, die um 3-6 % über denen klassischer Maischverfahren liegen. Ferner nimmt gleichzeitig mit der oben geschilderten guten Dextrinierung im Anfangsstadium auch die Viskosität der Maische schnell ab. Dies ermöglicht die Verarbeitung hochkonzentrierter Maische mit einem Feststoffgehalt von 20-40 %, so daß nur noch etwa die Hälfte bis ein Drittel des Maischraums der klassischen Verfahren benötigt wird.

Die durch die neue Maischtechnologie ermöglichte Einsparung von  $\alpha$ -Amylase bringt außer einer Verbilligung noch den Vorteil, daß hellere Würzen erhalten werden. Es wurde nämlich

festgestellt, daß gerade technische  $\alpha$ -Amylasepräparate durch Oxydase-Nebenaktivitäten eine Dunkelfärbung der Würze verursachen. Eine hellere Würzefärbung wird zusätzlich noch dadurch begünstigt, daß nach dem erfindungsgemäßen Verfahren während der ersten Maischrast (bei ca. 70°C) weder eine nennenswerte Verzuckerung noch eine stärkere Proteolyse erfolgt, sondern die niedermolekularen Zucker und Aminosäuren erst in der zweiten Maischrast bei niedrigerer Temperatur gebildet werden. Für die farbstoffbildende Maillard-Reaktion stehen die Ausgangssubstanzen (Aminosäuren bzw. reduzierende Zucker) somit erst kurz vor Maischende und bei niedrigerer Temperatur als üblich zur Verfügung.

Eine wesentliche Vereinfachung bedeutet es ferner, daß der nach dem Enzymzusatz erfolgende Aufschluß nur mehr in einer einzigen pH- und Temperaturstufe erfolgt. Möglich wird diese Vereinfachung dadurch, daß aus der Vielzahl der aus Pflanzen und Mikroorganismen zu gewinnenden Enzyme speziell solche ausgewählt werden, die bezüglich pH- und Temperatur-optimum bei Rohfruchtmaische als Substrat miteinander übereinstimmen.

Für bestimmte Verwendungszwecke ist es vorteilhaft, das Aufschlußprodukt in einen haltbaren konzentrierten Zustand zu bringen, der auch einen eventuellen Transport wesentlich erleichtert. Dazu wird die Würze im Vakuum bei 40-70°C auf 40-80 % Extraktgehalt eingedickt und entweder in diesem sirupartigen Zustand verwendet oder bei 200 bis 280°C Luft-Eingangstemperatur und 90 bis 140°C Luft-Ausgangstemperatur sprühgetrocknet.

Die bisher für ähnliche Würzen bekanntgewordenen Sprühtrocknungsverfahren (s. DOS 1 903 400 und DOS 1 918 765) sehen wesentlich niedrigere Trocknungstemperaturen vor. Es hat sich in vielfachen Versuchen gezeigt, daß gerade die hier angewandten höheren Temperaturen im Hinblick auf den Geschmack von aus dem Würzepulver hergestelltem Bier Vorteile haben. Bei der Trocknung werden offenbar ähnliche Röstprodukte gebildet wie beim Abdarren des für herkömmliche Biere verwendeten Malzes, so daß Biere, die aus dem verfahrensgemäß getrockneten Aufschlußprodukt hergestellt werden, geschmacklich hervorragend sind und nicht den Rohfruchtbieren üblicherweise anhaftenden "Rohfruchtgeschmack" aufweisen. Durch die oben angegebenen Temperaturspannen beim Trocknungsprozeß ist eine beliebige Zufärbung der Aufschlußprodukte innerhalb der durch die einzelnen Biertypen vorgegebenen Grenzen möglich. So ergeben sich mit den unteren Temperaturen der angegebenen Spannen Gerstenwürzepulver, die bei Wiederauflösen in Wasser sehr helle Würzen ergeben mit Farbwerten, wie sie für Pilsener Würzen üblich sind. Mit den höheren Trocknungstemperaturen kann man stärker gefärbte Pulver herstellen, wie sie zum Beispiel für Biere vom Wiener oder Münchner Typ erforderlich sind.

#### Verfahrensbeispiel

36 kg Rohfrucht (Gerste, Mais, Reis, Weizen, Roggen, Hafer oder Hirse) und 4 kg Weizendarrmalz wurden mit Spelzen (sofern bei der betreffenden Cerealienart vorhanden) bis zu einem Feinmehlanteil von etwa 75 % vermahlen. Die derart zerkleinerten Rohstoffe wurden in einem temperierbaren Maischgefäß mit 100 Liter Wasser von 35-40°C verrührt. Der pH-Wert der so erhaltenen Maische betrug etwa 5,8. Innerhalb

von 45 Minuten wurde die Maische auf 70°C erwärmt und 60 Minuten zur Dextrinierung und Verflüssigung bei dieser Temperatur gehalten. Nach etwa 20-minütigem Abkühlen auf 58°C wurde der pH-Wert der Maische mit Zitronensäure-Monohydrat auf 5,0 gesenkt. Dann wurden 80 g standardisiertes Enzym-Kombinationspräparat gemäß oben <sup>auf S. 6</sup> angegebener Zusammensetzung zugegeben. Nach 60-minütigem Verzuckerungs- und Proteolyserast erfolgte die Abtrennung der groben Maischebestandteile durch Dekantieren. Anschließend wurde die Restmaische mit 1 kg Kieselgur versetzt und über ein Anschwemmfilter filtriert. Die Koagulation und Entfernung des Eiweißes erfolgte durch kurzzeitiges Erhitzen auf 100°C, Versetzen mit 0,5 kg Kieselgur und Blankfiltrieren. Das als Filtrat anfallende Ausschlußprodukt wurde dann im Vakuum bei etwa 55°C bis zu einem Extraktgehalt von etwa 55 % aufkonzentriert und im Sprühturm bei 210°C Luft-Eingangstemperatur und 95°C Luft-Ausgangstemperatur mit einem Verdüsendruck von 2,5 atü (Zweistoffdüse) getrocknet.

Nach Wiederauflösen des verfahrensgemäß hergestellten Gerstenwürzepulvers wurde dieses 90 Minuten mit Hopfen gekocht und in üblicher Weise zu Bier vergoren, das im Geruch rein, im Trunk angenehm vollmundig, rein, weich und in der Bittere sehr mild beurteilt wurde. Besonders hervorzuheben ist die ausgezeichnete Stabilität des aus unserem pulverisierten Ausschlußprodukt hergestellten Bieres, die auch in der Tabelle 4 zum Ausdruck kommt.



Tabelle 4

Scheinbarer Extrakt, %.....	1,60
Wirklicher Extrakt, % .....	3,36
Alkohol, % .....	3,88
Stammwürze, % .....	10,92
Ausstoßvergärungsgrad scheinb., % .....	85,4
Endvergärungsgrad scheinb., % .....	85,5
pH-Wert .....	4,5
Farbe, EBC .....	11,5
Schaumzahl (Ross & Clark) .....	144
Bitterstoffe, EBC .....	20,6
Gerbstoffe, mg/l .....	93
Anthocyanogene, mg/l .....	19
Ges. N, mg/100 ml .....	99,7
Koagul. N, mg/100 ml .....	1,8
Höchmol. N, mg/100 ml .....	33,6
Mittelmol. N, mg/100 ml .....	23,9
Niedermol. N, mg/100 ml .....	42,1
Formol-N, mg/100 ml .....	14,5
Kältetrübung nach EBC	
24 h bei 0°C .....	0,0
48 h bei 0°C .....	0,3
1 Warmtag bei 40°C .....	0,5
Warmtage bis 2 EBC-Trüb.-einheiten	
erreicht (40° / 0° / 40°) .....	9,5

Patentansprüche

- ①. Verfahren zur Gewinnung eines Aufschlußproduktes aus Cerealien unter Zusatz von Malz und Enzymen, dadurch gekennzeichnet, daß die zerkleinerte Rohfrucht mit 4 bis 20 % Malz zu einer Maische angeteigt wird, diese bei einer Temperatur zwischen 67°C und 73°C erwärmt und etwa 15 bis 180 Minuten bei dieser Temperatur gehalten wird, anschließend auf 54°C bis 62°C abgekühlt und ein pH-Wert von 4,5 bis 5,5 eingestellt wird, worauf ein Amyloglucosidase und mindestens eine mikrobielle und/oder pflanzliche Protease enthaltendes Enzymgemisch zugefügt und die eingestellte Temperatur 15 bis 300 Minuten eingehalten wird, bevor die übliche Separation und/oder Filtration und gewünschtenfalls die Konzentrierung und/oder Trocknung des als Filtrat anfallenden Aufschlußproduktes erfolgt.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß als Cerealien-Rohfrucht Gerste, Roggen, Weizen, Mais, Reis, Hafer oder Hirse jeweils allein oder in beliebiger Mischung eingesetzt werden.
3. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß pro kg der eingesetzten Cerealien  
1000 bis 3000 Amyloglucosidase-Einheiten und  
100 bis 500 Protease-Einheiten  
in Form eines Enzymgemisches zugesetzt werden.

4. Verfahren nach Anspruch 1 und 3, dadurch gekennzeichnet, daß die zugesetzte Proteaseaktivität aus mindestens zwei verschiedenen Quellen stammt.
5. Verfahren nach Anspruch 1, 3 und 4, dadurch gekennzeichnet, daß die Proteaseaktivität einerseits aus Pflanzen oder Pilzen und andererseits aus Bakterien stammt.
6. Verfahren nach Anspruch 1, 3 und 4, dadurch gekennzeichnet, daß die zugesetzte Proteaseaktivität zu etwa 70 % aus Pflanzenprotease und zu etwa 30 % aus Bakterienprotease stammt.
7. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Maische einen Feststoffgehalt von 20 bis 40 % aufweist.
8. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß das eingesetzte Malz eine Aktivität von mindestens 80 SKB-Einheiten pro g Trockensubstanz aufweist.
9. Verfahren nach Anspruch 1 und 8, dadurch gekennzeichnet, daß als Malz Weizendarrmalz oder Weizengrünmalz verwendet wird.
10. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß das als Filtrat anfallende Aufschlußprodukt im Vakuum auf 40 bis 70 % Extraktgehalt eingedickt wird.
11.  $\alpha$ -Amylase-freies-Enzympräparat zum Aufschluß von Cerealien, dadurch gekennzeichnet, daß es Amyloglucosidase und mindestens eine mikrobielle und/oder pflanzliche Protease enthält.

12. Enzympräparat nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, daß seine Proteaseaktivität aus zwei verschiedenen Quellen stammt.
13. Enzympräparat nach Anspruch 11 und 12, dadurch gekennzeichnet, daß die Proteaseaktivität einerseits aus Pflanzen oder Pilzen und andererseits aus Bakterien stammt.
14. Enzympräparat nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, daß die Proteaseaktivität zu etwa 70 % aus Pflanzenprotease und zu etwa 30 % aus Bakterienprotease stammt.
15. Enzympräparat nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, daß es ein Aktivitätsverhältnis der Amyloglucosidase-Einheiten zu Protease-Einheiten von 1 bis 0,03 bis 0,5 aufweist.
16. Enzympräparat nach Anspruch 11 und 15, dadurch gekennzeichnet, daß es eine Aktivität von 500 bis 1500, vorzugsweise 1000 Amyloglucosidase-Einheiten pro g und 50 bis 250, vorzugsweise 100 Protease-Einheiten pro g aufweist und mit einer enzymfreien Substanz auf diese Aktivitätswerte standardisiert ist.
17. Enzympräparat nach Anspruch 10, 15 oder 16, dadurch gekennzeichnet, daß es neben Amyloglucosidase und mindestens einer mikrobiellen und/oder pflanzlichen Protease noch Cellulasen, Hemicellulasen und/oder Pektinasen enthält.

18. Enzympräparat nach einem der Ansprüche 11 bis 17, dadurch gekennzeichnet, daß bei seiner Anwendung in Rohfruchtmaische das Optimum der proteolytischen Wirkung, gemessen an der Zunahme des Formolstickstoffs, das Optimum der amylolytischen Wirkung, gemessen an der Zunahme der vergärbaren Zucker und das Optimum der viskositätsverringernenden Wirkung nicht weiter als um 0,6 pH-Werte und 8°C, vorzugsweise nicht weiter als um 0,3 pH-Werte und 4°C auseinanderliegen.
19. Enzympräparat nach Anspruch 18, dadurch gekennzeichnet, daß das pH-Optimum seiner Enzyme zwischen 4,7 und 5,3, vorzugsweise zwischen 4,9 und 5,2 und das Temperaturoptimum zwischen 54 und 62°C, vorzugsweise zwischen 56 und 60°C liegt.
20. Herstellung eines Enzympräparates nach einem der Ansprüche 11 bis 19, dadurch gekennzeichnet, daß man Amyloglucosidase mit mindestens einer mikrobiellen oder pflanzlichen Protease mischt, gewünschtenfalls noch Cellulasen, Hemicellulasen und/oder Pektinasen zufügt und durch Abmischen mit einer enzymfreien Substanz standardisiert.
21. Verwendung eines Enzympräparates nach einem der Ansprüche 11 bis 20 zum Aufschluß von Cerealien-Rohfrucht.
22. Verfahren nach Anspruch 1 und 21, dadurch gekennzeichnet, daß das Aufschlußprodukt in einem Sprühtrockner getrocknet wird.

23. Verfahren nach Anspruch 22, dadurch gekennzeichnet, daß die Sprühtrocknung bei einer Luft-Eingangstemperatur von 200 bis 240°C und einer Luft-Ausgangstemperatur von 90 bis 140°C erfolgt.
24. Sprühgetrocknetes Aufschlußprodukt aus Cerealien-Rohfrucht, dadurch gekennzeichnet, daß es nach dem Verfahren des Anspruchs 23 gewonnen wurde.
25. Verwendung des Aufschlußproduktes nach einem der Ansprüche 1 bis 9 oder 24 als Grundstoff für Brauzwecke, sonstige alkoholische oder alkoholfreie Getränke, Malzbonbons und sonstige Süßwaren, mikrobiologische Nährböden, diätetische und Kindernährmittel, Backzusätze u.ä.